



特 許 願
昭和48年3月31日

- 特許庁長官 三宅 幸夫 殿 7和48年3月31日
- 1 発 明 の 名 称
ディスク電気泳動測定方法
デンキエイドウドウタイドウホウ
- 2 発 明 者 〒 573
大阪府枚方市紫野本町2丁目1番地
ヒラカサゴウドウケンシヤ
枚方合同宿舍2531号
トクシヤ マサ ノブ
徳 重 正 信
- 3 特 許 出 願 者 〒 606
キョウトシ ヤマトクヨシダシヤチム ベンチ
京都市左京区吉田本町無番地
キョウトダイガクソウチヨウ マエ ダン オノ
京都大学総長 前 田 敏 男

4 添付書類の目録

- | | |
|-------------|-----|
| (1) 願 書 副 本 | / 通 |
| (2) 明 細 書 | / 通 |
| (3) 図 面 | / 通 |
| (4) 出願審査請求書 | / 通 |

明 細 書

- 1 発 明 の 名 称
ディスク電気泳動測定方法
- 2 特 許 請 求 の 範 囲
ポアサイズおよび水素イオン濃度の異なる二層のゲルの界面の直下又は其近で電気泳動の進行時にクロマトグラムを展開させながら泳動像の吸光度、蛍光、屈折率、あるいは放射能などを連続的に測定、又は記録することを特徴とするディスク電気泳動測定方法。
- 3 発 明 の 詳 細 な 説 明
本発明は、ディスク電気泳動測定方法に関するもので、測定精度の向上、測定時間の短縮および測定操作の簡略化を目的とするものである。
蛋白質・核酸・酵素あるいは血清等の分離・分析又は純度の検定等の為に、これらの試料をゲル状担体に添加して電圧を印加する。すると電気泳動速度の相違から試料が分離する現象は古くから知られていた。
そして該現象に用いられているゲル状物質は、

① 日本国特許庁

公開特許公報

- ①特開昭 49-126395
④公開日 昭49.(1974) 12. 3
②特願昭 48-38583
②出願日 昭48.(1973) 4. 4
審査請求 有 (全3頁)

庁内整理番号 ⑤日本分類

6928 24 1/3 G2

デキストリン又はポリアクリルアミド等の分子篩の性質を有するゲルを用いれば、分離は一層促進されることも知られていた。

この分子篩のポアサイズおよび水素イオン濃度の不連続性を利用したディスク電気泳動法に関して、従来はオ1図説明用図面の如き分離を行なうものとして処理されていた。

すなわち、大きなポアサイズゲル2（以下濃縮ゲルという）と小さなポアサイズゲル3（以下分散ゲルという）を接触させて電圧をかける。

そして例えば、上述の蛋白質・核酸・酵素あるいは血清等の分離成分4、5、6を含む試料1を、濃縮ゲル2上にオ1図 (a) の如く添加する。すると該試料1は、濃縮ゲル2を泳動しオ1図 (b) の如く界面7の前に濃縮する該試料1の各分離成分4、5、6は、分子量等の相違から順次泳動し、オ1図 (c)、(d) の如く時間に依存し分離泳動し、オ1図 (e) の如き各分離成分は完全に分離する。

該分離された各成分の吸光度等を測定記録し、クロマトグラムを撮り、該のクロマトグラムのバ

カーンより生体高分子の分離・分析・純度検定・病気の診断等を行なっていた。

しかし従来は、該クロマトグラムを得るまで以下のような工程を取らねばならなかつた。

電気泳動終了後に一旦ゲルを取り出し、蛋白質又は核酸等を適当な方法で染色したのち脱色し、濃度計にかけるか、あるいは写真撮影を行なう。

又は、濃度計の試料室に長いゲルを挿入してゲルを一定速度で移動させ、時間に対する濃度変化を測定・記録する。

これらの測定方法には、次の様な不都合が生じていた。

オ1に、試料が完全に分離泳動するまでに時間がかかる。

オ2に、一般的に無色透明な試料が完全に分離したかどうかを見きわめるのに非常に困難であり泳動時間が長すぎると泳動分離した分離成分が緩衝液槽の中に入り込んでしまう。

オ3に、濃度の乏しいゲルの輪切り・染色・脱色等手作業による運搬動作が必要である。このこと

りである。

説明用図面第4図において、分離成分4、5、6を含む試料1を濃縮ゲル2の先端に添加する。そして電圧を印加し電気泳動を行なう。分離成分4、5、6は、濃縮ゲル2を泳動し分散ゲル3との界面7の位置に濃縮する。ここでこの界面7を通過する各分離成分の分子量、大きさ、あるいは電荷等の差違のために通過順位が異なり、通過した時はオ4図(ウ)の通りに完全に分離し、すでに狭い泳動帯が得られ、分散ゲル3を泳動する。そして各分離成分は、オ4図(ウ)、(ウ)の如く界面7を通過する時に、それぞれ完全に分離し、分散ゲル3を泳動する。

すでにオ1図において説明された通りに、界面7を通過する分離成分は順次重複して通過し、分散ゲル3において完全に分離するとした、従来の測定方法からは適切な測定が不可能であつた。所が、電気泳動現象を詳細に観察・分析すると分離成分は、界面7を通過した時すでに完全に分離泳動していることが、従来の研究から明らかとな

とは、熟練した作業者が必要である。

オ4に、電気泳動分離を中止してゲルを取り出して染色・脱色し測定するまでに拡散現象は更に顕著となり、クロマトグラムのピーク値が下がり、幅広くなり解像度が低下する。

オ5に、泳動分離・染色・輪切り・測定・記録とクロマトグラムを得るまでに時間がかかる。

オ6に、手作業が切りはなせない為に、集団検診等多量の試料を同時に測定・記録する装置の自動化が不可能であつた。

従つて本発明の目的は、上述の諸欠点を除去することであり、測定精度の向上および測定時間の短縮および測定操作の簡略化を目的とするものである。

すなわち本発明は、ポアサイズおよび水素イオン濃度の異なるゲルの界面の直下又は直近で電気泳動の進行時に、クロマトグラムを展開させながら、泳動像の吸光度等を連続的に測定又は記録することを特徴とするディスク電気泳動測定方法であり、説明用図面から詳細に説明すると以下の通り

り実証された。

この実証から分離成分が、界面7を通過した直後で測定すれば従来はたせなかつた測定精度の向上・測定時間の短縮および測定操作の簡略化と数々の長所を導いたものであり、オ5図説明用図面からさらに明らかにする。

界面7にできるかぎり近づけ、しかも分散ゲル3側に光束が通過するように光源8と検知器9を設け、濃度計を配置する。そして電圧を印加し、電気泳動の進行時にクロマトグラムを展開しながら光源8と検知器9を結ぶ直線上を泳動する各分離成分の吸光度を連続的に測定・記録しクロマトグラムを得る。

又多量の試料を同時に泳動させ、測定・記録する場合は例えば、ゲルを充填するカラムを多数本配置し、光束の位置へ順次回転等移動し、多色記録計で各カラムのクロマトグラムを記録するか、逆にカラムを固定し、光源と検知器を同時に移動させ、同時にクロマトグラムを記録することで容易に行なえる。

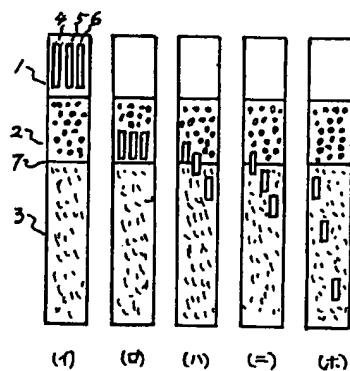
又これらの試料の泳動時間の不規則性は、ゲルの物質の測定・印加電圧の制御で容易に行えることは明らかである。

従つて以上に述べた如き、電気泳動測定装置の自動化を可能にした測定方法から分離泳動が始まつたら測定を開始する。又染色・脱色作業が必要ないこと等から測定時間の短縮、分離泳動進行時に測定を行なうために拡散現象が生じない。又は生理活性物質が人為的影響を受けない等による測定精度の向上・測定装置の自動化による測定操作の簡略化等数々の効果が得られることが明らかである。

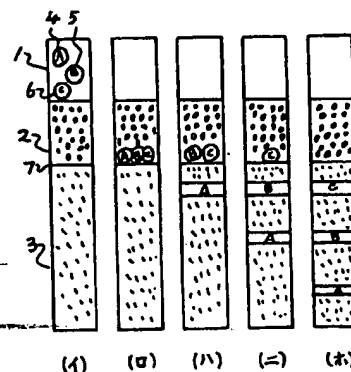
4 図面の簡単な説明

図面は、本発明の説明用図面を示すもので、
図・オ2図・オ3図は、従来例の解説図面を示し、
オ4図・オ5図は本発明の解説図面を示すものである。

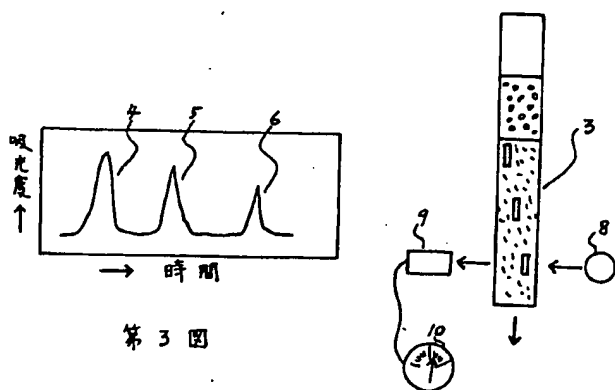
- 1 : 試料
- 2 : 大きなポアサイズゲル（濃縮ゲル）
- 3 : 小さなポアサイズゲル（分散ゲル）



第1図

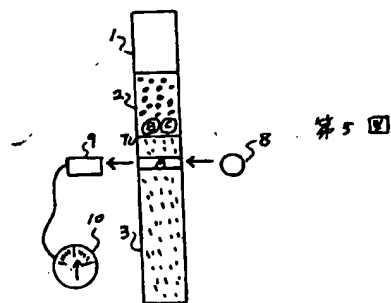


第4図



第3図

第2図



第5図

- 4、5、6 : 分離成分
- 7 : 界面
- 8 : 光源
- 9 : 検知器
- 10 : 記録計

特許出願人

京都大学総長 前田 徹 男